肠黏膜上皮组织紧密连接的生物学功能和作用机理

陈 意 李方方 张 勇[2]* 黄铁军[2]

（1.沈阳农业大学畜牧兽医学院，沈阳 110866；2.乐达（广州）香味剂有限公司，广州 510530）

摘 要:紧密连接（TJ）是肠黏膜上皮细胞间的主要连接方式,对维持黏膜上皮细胞极性及调节肠屏障的通透性发挥着重要的作用。TJ 在黏膜上皮细胞间形成限制溶质和物质运动的细胞屏障。总的来说,TJ 的结构可以概括为跨膜屏障蛋白与周围的脚手架蛋白组成的间隔。在这个复杂的网络中有许多相关的信号蛋白，影响屏障和更广泛的细胞功能。本文从 TJ 在肠黏膜上皮中的生物学功能、分子调控机制及当前研究现状等作综合阐述。

关键词:肠黏膜上皮细胞；紧密连接；黏膜屏障；作用机理

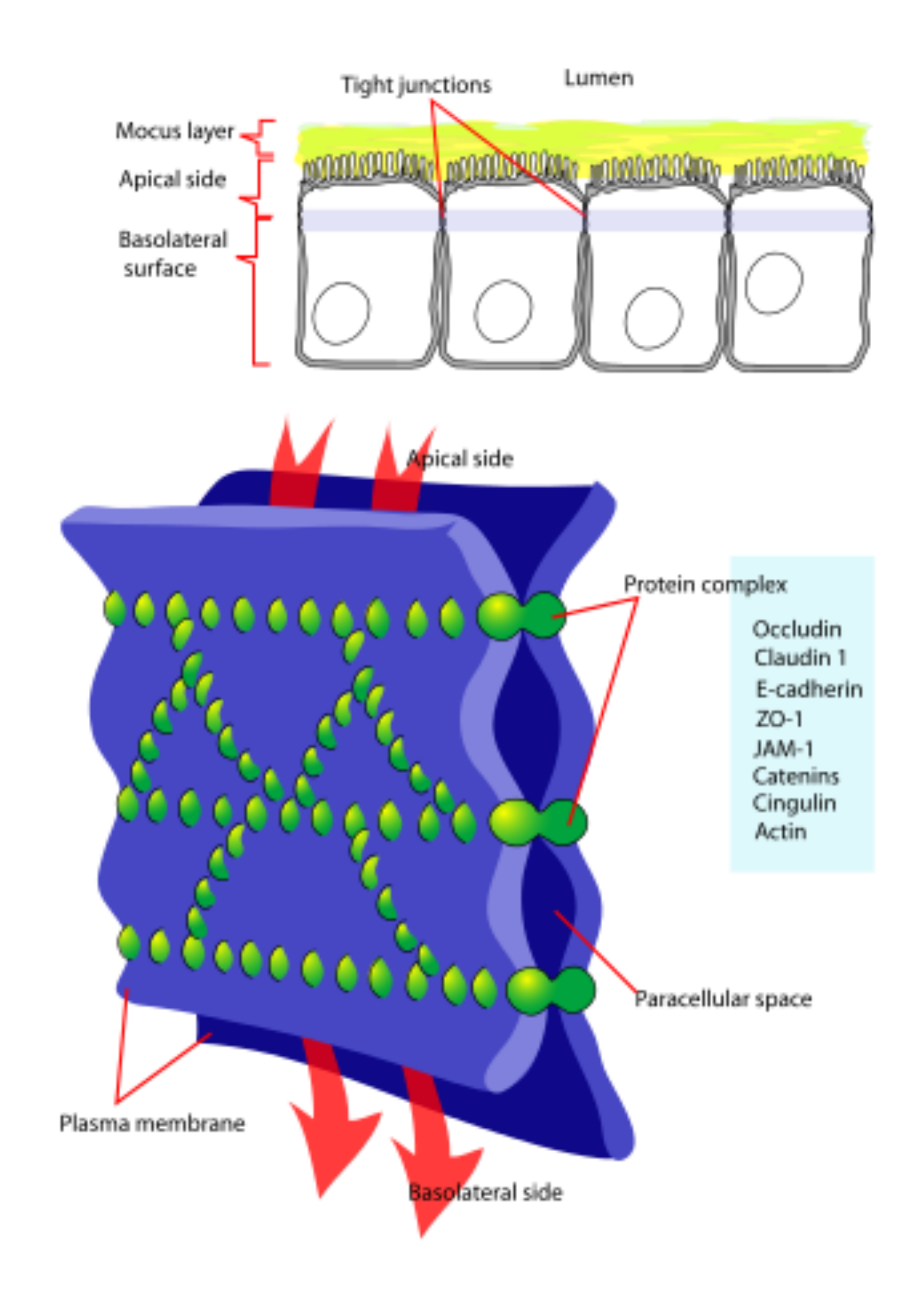
中图分类号：S852.2

黏膜是肠道上皮重要的一道屏障，它是由肠黏膜上皮细胞(intestinal epithelial cell,IEC)连接构成，并调控着物质的跨上皮运输,如单糖、氨基酸、核苷酸、维生素及激素。肠道黏膜上皮细胞间有多种连接方式，如紧密连接(tight junction,TJ)、缝隙连接(gap junction,GJ)、黏附连接(adherence junction,AJ)以及桥粒(desmosome)等。其中 TJ 是细胞间最重要的连接方式，TJ 在黏膜上皮细胞间形成限制溶质和物质运动的细胞屏障。目前许多蛋白已被确定为 TJ 的组件，了解它们的组织机构和相互作用对于理解屏障的生物学作用是至关重要的。屏障的结构可以概括为间隔与跨膜屏障[密封蛋白（claudin）[1]、闭合蛋白（occludin）[2]、连接黏附分子(JAM)[3]等]与周围的脚手架蛋白[外周蛋白 1(ZO-1)、丝状肌动蛋白结合蛋白（afadin）[4]等]组成的一类蛋白复合体。在这个复杂的网络中有许多相关的信号蛋白，影响屏障和更广泛的细胞功能。黏膜上皮细胞间转运需要细胞旁的密封结构以便跨层细胞离子和溶质的定向运输。这种密封结构是由 TJ 形成的，TJ 是在相邻细胞之间最顶端交界处由一系列细胞接触形成的横向连接。TJ 结构如图 1 所示。

收稿日期：2017-02-23

作者简介：陈 意（1993—），男，安徽合肥人，硕士研究生，从事分子营养学与饲料资源开发利用研究。E-mail: 15940519094@163.com

*通信作者：张 勇，教授，硕士生导师，E-mail: syndzhy@126.com



tight junctions：紧密连接；lumen：腔道；mucus layer：黏液层；apical side：顶面；basolateral surface：基底外侧面；protein complex：蛋白复合体；occludin：闭合蛋白1；claudin-1：密封蛋白1；E-cadherin：上皮细胞钙黏蛋白；ZO-1：外周蛋白1；JAM-1：连接黏附分子1；catenins：链蛋白；cingulin：扣带蛋白；actin：肌动蛋白；paracellular space：细胞旁路间隙；plasma membrane：质膜；basolateral side：基底面。

图1　TJ的蛋白结构

Fig.1　Protein structure of TJ[5]

1 TJ 的生物学特征

1.1 蛋白种类

肠黏膜上皮细胞分为黏液层、顶面、基底外侧面，TJ是在上皮细胞和内皮细胞连接复合体的最顶端结构，由众多蛋白及其连接物从质膜的顶面到基底外侧面之间形成屏障结构和细胞旁路间隙。研究表明，TJ中含有众多蛋白,构成多分子TJ复合物蛋白可以分为3组：1）TJ整合蛋白（occludin、claudin），它连接顶端细胞间隙并形成调节渗透性屏障;2）TJ斑块蛋白[上皮细胞钙黏蛋白（E-cadherin）、ZO-1、JAM-1]，其中多数表达（PDZ）结构域作为整合TJ蛋白和肌动蛋白（actin）细胞骨架之间的连接，并且作为衔接细胞信号相关的胞浆分子的接头蛋白;3）其他蛋白[联蛋白（catenins）、扣带蛋白(cingulin)、肌动蛋白等]，包括调节蛋白、肿瘤抑制剂以及转录和转录后因子，它们直接或间接地与TJ斑块蛋白相互作用，以协调这样的多种功能，如调节细胞外溶质渗透性、细胞增殖、细胞极性和肿瘤抑制。

1.2 主要蛋白结构

TJ作为一个屏障通过旁细胞途径调节离子和小分子的通道（屏障功能）和限制膜脂质和蛋白质在顶面和基底面之间的横向扩散，以维持细胞的极性（栅栏功能）。组成TJ的众多蛋白中整合蛋白最重要，主要包括occuldin和claudin。occuldin是约64 ku的4跨膜蛋白，形成由短胞质环分开的2个细胞外环，并且氨基端和羧基端结构域都在胞质区域内（图2）。羧基端结构域富含丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基，是许多蛋白质和酪氨酸激酶的靶标。2个细胞外环具有不寻常的氨基酸组成，包括高含量（61%）的酪氨酸和甘氨酸残基的第1环，而第2环在酪氨酸残基（18%）中富集。在任一环中存在非常少的带电荷的氨基酸，并且在中性pH下，它们被预测为不具有净电荷。根据数据库搜索和基因组克隆研究结果，已鉴定出claudin家族成员有24个，经预测其基因编码20~27 ku的蛋白，其中claudin和occuldin没有任何同源序列，但和occuldin相似的是claudin具有相对短的胞质氨基和羧基端侧翼的53个氨基酸的第1胞外环和长度为24个氨基酸的第2个更短的环的4层蛋白（图2）。

ZO蛋白家族作为TJ重要的支架蛋白，包括ZO-1[6-7]、ZO-2和ZO-3[8]。这3个多模块蛋白属于膜相关鸟苷酸激酶（membrane-associated guanylate kinase-like，MAGUK）家族结构上均含有氨基端PDZ域中央Src同源结构域3（Src homology 3，SH3）和鸟苷酸激酶（guanylate kinase-like，GUK）域以及1个富含脯氨酸的领域[9]。这些蛋白-蛋白相互作用结构域通过与

TJ跨膜蛋白和纤维型肌动蛋白胞浆尾部形成稳定结构，这对链的装配具有关键作用。除了脚手架功能以外，ZO蛋白具有调控作用，对肌动球蛋白调节因子、信号蛋白和转录因子以及细胞极性有调节作用[10]。此外，在细胞融合性低或连接重构的条件下，一些ZO蛋白可以在TJ和细胞核之间穿梭[11]。因此，这些功能使ZO蛋白作为细胞外对TJ的动态冲击变化的机械感受器协调对像细胞极化、连接细胞装配、细胞增殖和细胞分化的基本细胞连接装配的过程。

连接黏附分子（junctional adhesion molecules，JAMs）是一类糖蛋白，属于免疫球蛋白超家族（immunoglobulin superfamily，IgSF）由 2 个胞外类免疫球蛋白样结构域（v-c2 型免疫球蛋白结构域）[12]，1 个跨膜区和 1 个可变的胞质尾部。JAM 的家庭是由 3 个密切相关的蛋白（JAM-A[13-14]、JAM-B[15-16]和 JAM-C[17-18]）组成，在氨基酸水平上为 35%和 1 个短的、在羧基端的含有Ⅱ类 PDZ 结合基序可变的胞内结构域（40~50 残基）[19]。由于Ⅰ类和Ⅱ类 PDZ 结合基序与支架蛋白与肌动蛋白细胞骨架和信号通路的相互作用，JAM 和相关蛋白定位于不同细胞质蛋白负责不同的功能联系。

claudin 和 claudin-1 是不共享序列同源性的 4 层蛋白。claudin 的第 1 胞外环富含酪氨酸和甘氨酸残基，并且 2 个环带电荷氨基酸残基均较少。相比之下，claudin-1 的 2 个细胞外环的氨基酸组成变化显著，因此产生了宽范围的等电点。JAM-1 跨膜浆膜 1 次，并具有 2 个胞外免疫球蛋白样的结构域，其中第 1 氨基末端环与其相邻细胞上的同源配偶体相互作用。

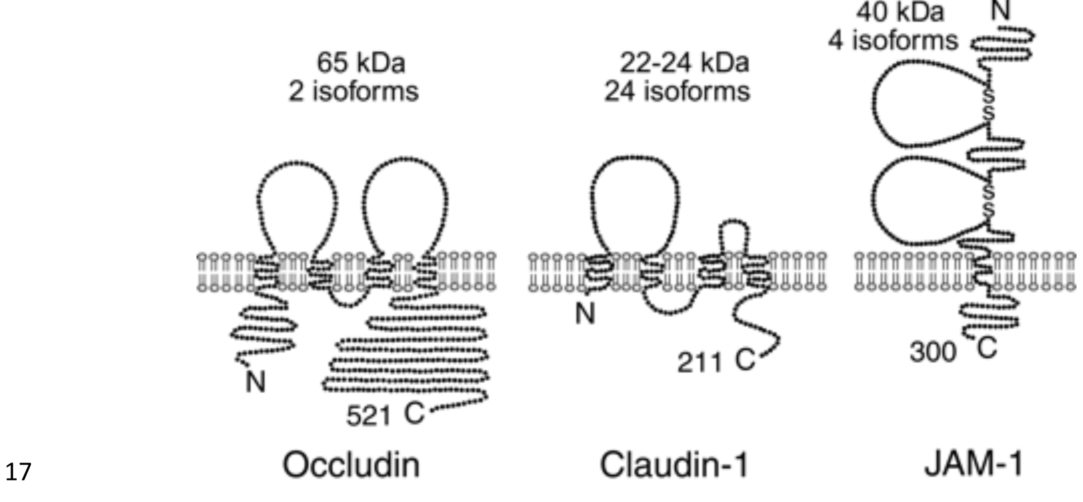


图2　occludin、claudin-1、JAM-1的蛋白结构

Fig.2　Protein structures of occludin, claudin-1 and JAM-1[1-3]

2　TJ 中主要蛋白的作用

黏膜上皮在不同流体和溶质组成的细胞区室之间形成具有选择性的屏障，基本上通过 2 个途径控制调节：1）跨细胞途径，由能量依赖性转运蛋白和不对称分布在顶端的通道控制；2）细胞旁通路，其中整合的 TJ 蛋白跨越顶端细胞间隙，并调节离子和小的不带电荷的溶质通过细胞旁空间进行被动扩散[20]。TJ 除了在细胞旁通路中作为调节的屏障，还在质膜平面中起到栅栏的作用，其中包括有助于维持整合膜蛋白和脂质的不对称分布。

2.1 claudin 参与离子选择性孔隙的形成

最近使用细胞膜非渗透聚乙二醇低聚物的研究表明，在肠细胞单层的 TJ 内存在限制性孔，半径为 0.43~0.45 nm[21]。尽管这一数据表明 TJ 阻挡层对小的不带电的溶质是可渗透的，但是 TJ 中的孔能够区分相似电荷的离子，并且它们的渗透性取决于离子浓度和环境 pH[22-23]。除了少数例外，大多数黏膜上皮中的 TJ 是阳离子选择性的。然而，TJ 的离子渗透性(TER)和溶质渗透性在不同组织中甚至在相同组织的细胞中变化很大[24-25]。在 TJ 的 2 个胞外结构域中仅存在 2 种同种型的 claudin 和少量带电残基，表明 claudin 不可能直接作用于 TJ 中离子选择性孔的形成。相比之下，claudin 的量和形式有所不同，细胞外环具有宽范围的等电点，假定一个或多个 claudin 的胞外结构域中的带电荷的氨基酸侧链可以在给定的 TJ 形成选择性孔隙。有试验表明，TJ 蛋白的胞外结构域足以在旁细胞途径中形成离子选择性孔[26]。然而，表达 claudin-4 胞外结构域对 claudin-2 的电生理效应大于过表达天然 claudin-4，表明其他结构域，包括羧基终端可能在调节离子选择性中发挥作用的可能性。

在与介质、pH 和温度的变化相关联的最小化扰动的条件下对处于稳态的汇合单层进行研究，发现了 TJ 共享离子通道的生物物理性质，包括尺寸和电荷选择性，对离子浓度和 pH 的依赖性，以及离子竞争的存在。这些观察结果表明[27]，特异性密蛋白似乎决定 TJ 中孔隙的离子选择性。

2.2 occludin 在 TJ 中的作用

occludin 在 TJ 中的作用及其对 TJ 中的离子孔的功能和/或调节的贡献（如果有的话）是不清楚的。claudin 在考克斯班尼犬肾(Madin-Darby canine kidney，MDCK)细胞中的过表达增加 TER，但矛盾的是，增加甘露醇的跨上皮通量。在表达前列腺素受体的 MDCK 细胞中与 G 蛋白偶联，激活 Ras 同源基因家族成员 A(Ras homolog gene family, member A,RhoA)-GTP 酶（GTPase)后观察到类似的功能变化，而 Ras 相关的 C3 肉毒底物 1(ras-related C3 botulinum

toxin substrate 1,*Rac*1)或 *RhoA-GTPase* 的过表达导致 TJ 结构和功能的破坏。值得注意的是，最近鉴定的 TJ 相关的 Ras 同源基因家族(Ras homolog gene family,Rho)-GTPase 特异性鸟嘌呤核苷酸交换因子（*GEF*/*H*1）的过表达增加了亲水性溶质的细胞旁通透性，而不影响 TER。然而，没有检查 GEF/H1 活性对 claudin 磷酸化状态和在 TJ 中的功能的影响。在内皮细胞中检查了 p160ROCK（RhoA 的关键效应子之一）可能调节 claudin 磷酸化和 TJ 通透性的可能性。有试验观察表明 claudin 可能是受体启动的信号的目标，并且 claudin 磷酸化可以独立于细胞骨架活性调节 TJ 通透性。有试验观察表明，occludin 可能行动协调细胞骨架的活动与各种信号通路，维护上皮细胞表型所必需的。

3 肠黏膜上皮细胞 TJ 的调控机制

当肠黏膜上皮的 TJ 的结构变异、减少或缺失，会导致肠黏膜上皮的间隙扩大，通透性也就会增加[28]，使得一些细菌、内毒素可通过细胞间隙进入体循环，进而引起某些肠道炎症性疾病，如炎症性肠病。目前，有关这些 TJ 的调控机制尚不完全清楚，但是通过下列这些途径调控是基本的共识。

3.1 磷脂酶 C(phospholipase C，PLC)依赖性信号通路

当肠道上皮黏膜受到外源性刺激或内源性刺激,肠道黏膜上皮细胞就会通过 G 蛋白的介导，从而激活 PLC，PLC 将 4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidyl-inositol 4, 5-biophosphate,PIP2)分解成 1,2-二脂酰甘油(1, 2-diacyl-glycerol,DAG)和三磷酸肌醇(inositol 1, 4, 5-trisphosphate,IP3)，进而激活蛋白激酶 C 同工酶、钙调素依赖性激酶和肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase,MLCK);PLC 活性改变，诱导周围连接肌动蛋白-肌球蛋白环的收缩，该环收缩移位会使得肠上皮的 TJ 结构松弛进而改变其功能[29]，使得肠黏膜上皮的通透性改变。乙醇和中链脂肪酸也可通过上述机制分解周围连接肌动蛋白-肌球蛋白环，进而改变肠黏膜上皮的通透性。

3.2 钙离子（Ca^{2+}）- E-cadherin 信号途径

E-cadherin 作用在于调节细胞外 Ca^{2+} 浓度进而调节 TJ。E-cadherin 在胞外部分形成 5 个含 Ca^{2+}结合部位的结构域。研究表明,当细胞外 Ca^{2+} 浓度减小时，可以激活 MLCK，从而使得肠黏膜上皮细胞的通透性增加。试验表明，Ca^{2+}螯合剂[如乙二胺四乙酸（EDTA）]能增加肠黏膜上皮细胞 TJ 的通透性，其机制可能是 EDTA 消耗细胞外 Ca^{2+}，导致 E-cadherin 所需

Ca^{2+}减少[30]，TJ 蛋白(occludin 和 ZO-1)分解，细胞旁路通透性增高。

3.3 酪氨酸激酶-磷酸酶信号通路

G 蛋白 α_{12}($G\alpha_{12}$)属异三聚体 G 蛋白家族，通过 SH3 结构域结合到 ZO-1，$G\alpha_{12}$ 活化能增强 MDCK 细胞旁路通透性。Meyer 等[31]研究发现，在 MDCK 细胞表现出 $G\alpha_{12}$ 活性时，Src 自磷酸化活性增高；同时 β 链蛋白酪氨酸磷酸化也升高，共聚焦显微镜下显示 TJ 蛋白被破坏，ZO-1 和钠，钾 ATP 酶（N^+，K^+-ATPase）的正常分布发生改变、细胞极性消失,而肌动蛋白应激纤维增高。酪氨酸激酶抑制剂金雀异黄素和 Src 特异性抑制剂 PP-2 能逆转上述改变，并可阻止细胞旁路通透性的升高。因此，$G\alpha_{12}$ 可部分通过 Sac 酪氨酸激酶通路调控上皮细胞的 TJ。

3.4 Rho-GTPase 途径

Rho-GTPase 属于 G 蛋白酶，分子质量为 20~30 ku，可以通过调节 Rho 的活性进而调节 TJ 的装配。研究发现，当 Rho-GTPase 激活 Rho 的活性后，会导致 ZO-1 和 occludin 在 TJ 处沉积，进而维持 TJ 的功能；当 Rho 的活性被 Rho-GTPase 抑制后则 ZO-1 和 claudin 在 TJ 处定位降低。研究发现当 Rho 活性抑制的同时敲除 *ATP*，在转染细胞中 TJ 成分会大量的丢失[32]。

4 影响TJ的因素

4.1 理化因素

有试验在不同功率密度的微波辐射下研究大鼠血脑屏障通透性、脑皮质和海马体中 *JAM*-1 表达的变化情况，结果表明，微波辐射会导致大鼠脑组织 *JAM*-1 表达水平降低，大鼠血脑屏障通透性增高；也有研究表明，在大鼠脑微血管内皮细胞培养试验中的氧糖剥夺/再给氧糖过程可破坏内皮细胞间 TJ[19]。

4.2 营养因素

4.2.1 脂肪酸

在目前的研究中，最佳膳食 α-亚麻酸/亚油酸（ALA/LNA）能增加小肠黏膜 claudin-3、claudin-b、claudin-c、claudin 和 *ZO*-1 表达水平，而降低 claudin-15a 在小肠黏膜的表达水平，表明最佳膳食 ALA/LNA 加强了鱼肠道的 TJ。有趣的是，在饲粮 ALA/LNA 为 1.03 的草鱼肠道中 claudin-12 表达水平提高，这可能与钙的吸收有关。Claassen 等[33]研究表明，二十碳

五烯酸以及它的同分异构体 γ-亚麻酸（GLA，n-6）可以刺激大鼠肠钙吸收。同时，增强钙的吸收有助于调节 claudin-12 在小鼠肠黏膜上皮细胞的表达。这些数据表明，膳食中 ALA/LNA 为 1.03 时 claudin-12 表达水平的增加可能由于吸收钙的刺激，这需要进一步的研究。MLCK 在调节小鼠 TJ 起着至关重要的作用。目前的研究表明，MLCK 转录丰度明显减少的比例为 1.03。进一步的相关分析表明，claudin-3、claudin-b、claudin-c、claudin 和 ZO-1 与 MLCK 呈负相关，而 claudin-15a 与 MLCK mRNA 丰度呈正相关。

4.2.2　蛋白质

血红蛋白可引起内皮细胞间 TJ 破坏及通透性增加，进而导致内皮屏障功能障碍。血红蛋白可引起细胞内磷酸化肌球蛋白轻链（phosphorylated myosin light chain，*p-MLC*）表达水平增加，进而导致细胞内纤维型肌动蛋白大量形成、并诱导细胞间 TJ 蛋白 *ZO*-1 表达水平下降，这一变化可能是内皮细胞间 TJ 破坏的重要病理生理机制之一。

胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptide-2，GLP-2)是一种促肠生长激素，在离体的断奶仔猪肠组织块中进行 GLP-2 梯度试验，即在肠组织块中添加不同浓度的 GLP-2 培养 72 h，试验结果表明适宜浓度的 GLP-2 促进了 *ZO*-1、Occludin、claudin-1 的表达。

肠毒素分子质量为 35 ku，它是一种由产气荚膜梭菌产生的能够使人类食物中毒的蛋白。该蛋白的羧基端特异性结合到 claudin-3 和 claudin-4[34]，而氨基端在质膜中形成孔。为了特异性与 TJ 蛋白结合并避免对质膜的损伤，肠毒素的羧基端转染 claudin-1、claudin-2、claudin-3、claudin-4 的 L-细胞，或汇合表达 claudin-1 和 claudin-4 的 MDCK Ⅰ 细胞。在 L-细胞转染子中，肠毒素片段选择性地结合到 claudin-3 和 claudin-4 而不是 claudin-1 或 claudin-2。值得注意的是，在 MDCK Ⅰ 细胞中，肠毒素片段与肠黏蛋白肽结合 4 h 内，TJ 开始分解，TER 下降，细胞旁通量增加。然而，这些研究尚不清楚肠毒素与 claudin-4 的相互作用是否导致了现有 TJ 链中蛋白的解聚。或者，因为 TJ 的破坏仅在将肠毒素加入到基底外侧表面时才发生，所以可以想象，肠毒素与膜中的 claudin-4 单体的相互作用阻止了它们结合到 TJ 链中，从而导致 TJ 的破坏。

CagA 是幽门螺杆菌产生的一种蛋白。当幽门螺杆菌黏附于上皮细胞的顶端连接复合物时，CagA 从细菌转位到上皮细胞中[35]。值得注意的是，CagA 似乎将幽门螺杆菌靶向细胞间连接处，其中肠毒素在细菌附着部位与 ZO-1 和 JAM-1 相互作用。在这种相互作用之后，

TJ 屏障功能被破坏，细胞形状被显着改变[36]。尽管导致幽门螺旋杆菌感染 TJ 破坏的机制尚不清楚，ZO-1 和 JAM-1 的扰动有可能导致重要信号分子的定位和功能异常。如果异常，这种相互作用的临床后果可能是胃溃疡或胃癌。

5 小　结

TJ是肠黏膜上皮细胞间最重要的连接方式之一，与蛋白质、脂肪酸等营养因子的结合影响了TJ中蛋白的活性，起到调节肠道上皮物质转运及通透性的作用。但是TJ调控的分子机制尚未完全清楚。因此，深入开展TJ蛋白的基因表达调控方面的研究，对深入探讨动物肠道以及组织屏障的调控机理有重要意义。

参考文献：

[1] FURUSE M,FUJITA K,HIIRAIG T,et al.Claudin-1 and claudin-2:novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin[J].The Journal of Cell Biology,2001,141(7):1539–1550.

[2] MATSUDA M,KUBO A,FURUSE M,et al.A peculiar internalization of claudins,tight junction-specific adhesion molecules,during the intercellular movement of epithelial cells[J].The Journal of Cell Biology,2004,117:1247–1257.

[3] YEAMAN C,GRINDSTAFF K K,NELSON W J.New perspectives on mechanisms involved in generating epithelial cell Polarity[J].Physiology Review,2005,79(1):73–98.

[4] CITI S,DENISENKO N.Phosphorylation of the tight junction protein cingulin and the effects of protein kinase inhibitors and activators in MDCK epithelial cells[J].Journal of Cell Science,2005,108:2917–2926.

[5] TSUKITA S,FURUSE M.Occludin and claudins in tight-junction strands:leading or supporting Players?[J].Trends in Cell Biology,1999,9(7):268–273.

[6] STEVENSON B R,SILICIANO J D,MOOSEKER M S,et al.Identification of ZO-1:a high molecular weight polypeptide associated with the tight junction (zonula occludens) in a variety of epithelia[J].The Journal of Cell Biology,2005,103(3):755–766.

[7] GUMBINER B,LOWENKOPF T,APATIRA D.Identification of a 160-kDa polypeptide that binds to the tight junction protein ZO-1[J].Proceedings of the National Academy of Sciences

of the United States of America,2005,88(8):3460–3464.

[8] HASKINS J,GU L J,WITTCHEN E S,et al.ZO-3,a novel member of the MAGUK protein family found at the tight junction interacts with ZO-1 and occludin[J].The Journal of Cell Biology,2005,141:199–208.

[9] GONZÁLEZ-MARISCAL L,BETANZOS A,ÁVILA-FLORES A.MAGUK proteins:structure and role in the tight junction[J].Seminars in Cell & Developmental Biology,2000,11(4):315–324.

[10] BAUER H,ZWEIMUELLER-MAYER J,STEINBACHER P,et al.The dual role of zonula occludens (ZO) proteins[J].Journal of Biomedicine and Biotechnology,2010,2010:402593.

[11] LOPEZ-BAYGHEN E,JARAMILLOY BE,HUERTA M,et al.TJ Proteins That Make Round Trips to the Nucleus[M]//GONZALEZ-MARISCAL L.Tight junctions.[S.l.]:Springer,2006: 76–100.

[12] WILLIAMS A F,BARCLAY A N.The immunoglobulin superfamily–domains for cell surface recognition[J].Annual Review of Immunology,2005,6(1):381–405.

[13] MALERGUE F,GALLAND F,MARTIN F,et al.A novel immunoglobulin superfamily junctional molecule expressed by antigen presenting cells,endothelial cells and platelets[J].Molecular Immunology,2005,35(17):1111–1119.

[14] MARTÌN-PADURA I,LOSTAGLIO S,SCHNEEMANN M,et al.Junctional adhesion molecule,a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration[J].The Journal of Cell Biology,2005,142(1):117–127.

[15] CUNNINGHAM S A,ARRATE M P,RODRIGUEZ J M,et al.A novel protein with homology to the junctional adhesion molecule.Characterization of leukocyte interactions[J].The Journal of Biology Chemistry,2000,275:34750–34756.

[16] PALMERI D,VAN ZANTE A,HUANG C C,et al.Vascular endothelial junction-associated molecule,a novel member of the immunoglobulin superfamily,is localized to intercellular boundaries of endothelial cells[J].The Journal of Biology Chemistry,2000,275(25):19139–

19145.
[17] ARRATE M P,RODRIGUEZ J M,TRAN T M,et al.Cloning of human junctional adhesion molecule 3 (JAM3) and its identification as the JAM2 counter-receptor[J].The Journal of Biology Chemistry,2001,276(49):45826–45832.
[18] AURRAND-LIONS M,DUNCAN L,BALLESTREM C,et al.JAM-2,a novel immunoglobulin superfamily molecule,expressed by endothelial and lymphatic cells[J].The Journal of Biology Chemistry,2001,276(4):2733–2741.
[19] EBNET K,SUZUKI A,OHNO S,et al.Junctional Adhesion Molecules (JAMs):more molecules with dual functions?[J].The Journal of Cell Science,2004,117(1):19–29.
[20] MADARA J L.Intestinal absorptive cell tight junctions are linked to cytoskeleton[J].American Journal of Physiology:Cell Physiology,2005,253(1):C171–C175.
[21] WATSON C J,ROWLAND M,WARHURST G.Functional modeling of tight junctions in intestinal cell monolayers using polyethylene glycol oligomers[J].American Journal of Physiology:Cell Physiology,2001,281(2):388–397.
[22] TANG V W,GOODENOUGH D A.Paracellular ion channel at the tight junction[J].Biophysical Journal,2003,84(3):1660–1673.
[23] YU A S L,ENCK A H,LENCER W I,et al.Claudin-8 expression in Madin-Darby canine kidney cells augments the paracellular barrier to cation permeation[J].The Journal of Biology Chemistry,2003,278(19):17350–17359.
[24] ENCK A H,BERGER U V,YU A S L.Claudin-2 is selectively expressed in proximal nephron in mouse kidney[J].American Journal of Physiology:Renal Physiology,2001,281(5):F966–F974.
[25] KIUCHI-SAISHIN Y,GOTOH S,FURUSE M,et al.Differential expression patterns of claudins,tight junction membrane proteins in mouse nephron segments[J].Journal of the American Society of Nephrology,2002,13(4):875–886.
[26] COLEGIO O R,VAN ITALLIE C M,RAHNER C,et al.Claudin extracellular domains determine paracellular charge selectivity and resistance but not tight junction fibril

architecture[J].American Journal of Physiology:Cell Physiology,2003,284(6):C1346–C1354.

[27] FURUSE M,FURUSE K,SASAKI H,et al.Conversion of zonulae occludentes from tight to leaky strand type by introducing claudin-2 into Madin-Darby canine kidney Ⅰ cells[J].The Journal of Biology,2001,153(2):263–272.

[28] HOLLANDER D,VADHEIM C M,BRETTHOLZ E,et al.Increased intestinal Permeability in patients with Crohn's disease and their relatives.A possible etiologic factor[J].Annals of Internal Medicine,2005,105(6):883–885.

[29] YAMAGUCHI Y,DALLE-MOLLE E,HARDISON W G.VasoPressin and A23187 stimulate phosphorylaiton of myosin light chain-1 in isolated rat hepatocytes[J].American Journal of Physiology:Gastrointestinal and Liver Physiology,2005,261(2):G312–G319.

[30] BEHLENS J,VAKAET L,FRIIS R,et al.Loss of epithelial differentiation and gain of Invasiveness correlates with tyrosine Phosphorylation of the E-cadherin/beta-catenin complex in cells transformed with a temperature-sensitive v-SRC gene[J].The Journal of Biology,2005,120(3):757–766.

[31] MEYER T N,HUNT J,SCHWESINGER C,et al.Gα_{12} regulates epithelial cell junctions through Src tyrosine kinases[J].American Journal of Physiology-Cell Physiology,2003,285(5):C1281–C1293.

[32] GOPALAKRISHNAN S,RAMAN N,ATKINSON S J,et al.Rho GTPase signaling regulates tight junction assembly and Protects tight junctions during ATP depletion[J].American Journal of Physiology：Cell Physiology,2005,275(3):C798–C809.

[33]CLAASSEN N,COETZER H,STEINMANN C M L,et al.The effect of different n-6n-3 essential fatty acid ratios on calcium balance and bone in rats[J].Prostaglandins,Leukotrienes and Essential Fatty Acids,1995,53(1):13–19.

[34] FUJITA K,KATAHIRA J,HORIGUCHI Y,et al.Clostridiu*m perfringens* enterotoxin binds to the second extracellular loop of claudin-3,a tight junction integral membrane protein[J].FEBS Letters,2000,476(3):258–261.

[35] ODENBREIT S,PÜLS J,SEDLMAIER B,et al.Translocation of *Helicobacter pylori* CagA

into gastric epithelial cells by type Ⅳ secretion[J].Science,2000,287(5457):1497–1500.

[36] AMIEVA M R,VOGELMANN R,COVACCI A,et al.Disruption of the epithelial apical-junctional complex by *Helicobacter pylori* CagA[J].Science,2005,300(5624):1430–1434.

Biological Function and Mechanism of Tight Junction of Intestinal Mucosal Epithelium

CHEN Yi LI Fangfang ZHANG Yong[2*] HUANG Tiejun[2]

（1. *College of Veterinary and Animal Science*, *Shenyang Agricultural university*, *Shenyang* 110866, *China*； *2. Lucta (Guangzhou) Flavours Co. Ltd.*, *Guangzhou* 510530, *China*）

Abstract**:** Tight junction is the main connection between intestinal epithelial cells, which plays an important role in maintenance of epithelial cell polarity and regulation of the permeability of the intestinal barrier. Tight junction creates an intercellular barrier limiting paracellular movement of solutes and materials across epithelia. In general, the architecture can be conceptualized into compartments with the transmembrane barrier proteins linked to peripheral scaffolding proteins. Within the complex network, tight junction is associated with many signaling proteins that affect the barrier and broader cell functions. This review was about biological function, molecular mechanisms and current research status of tight junction in intestinal mucosal epithelium.

Key words: intestinal mucosal epithelial cell; tight junction; intestinal barrier; mechanism

*Corresponding author, professor, E-mail: syndzhy@126.com （责任编辑 王智航）